

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT08.10.99
REC'D 26 NOV 1999
WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application:

1999年 2月12日

出 願 番 号
Application Number:

平成11年特許願第035047号

出 願 人
Applicant(s):

三井製糖株式会社
エーザイ株式会社

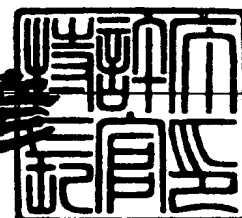
09/806925

PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年11月12日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近藤 隆彦



出証番号 出証特平11-3078047

【書類名】 特許願

【整理番号】 MST991

【提出日】 平成11年 2月12日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市神奈川区羽沢町 1194-33

【氏名】 水谷 武雄

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県鎌倉市台 4-12-9-201

【氏名】 古家 健二

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県茅ヶ崎市円蔵 1-5-44

【氏名】 永井 幸枝

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県鎌倉市小袋谷 2-5-1 三井製糖大船寮 305

【氏名】 村上 博司

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県鎌倉市小袋谷 2-5-1 三井製糖大船寮 304

【氏名】 河合 俊和

【発明者】

【住所又は居所】 東京都大田区新蒲田 2-22-3

【氏名】 樫村 淳

【発明者】

【住所又は居所】 東京都町田市本町田 3549-3 藤の台団地 2-27-501

【氏名】 清水 健夫

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県土浦市永国台 1-35

【氏名】 荒木 誠一

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市松代 1-30-2 ベルヴィーSEN
A101

【氏名】 鈴木 護

【特許出願人】

【識別番号】 000174998

【氏名又は名称】 三井製糖株式会社

【特許出願人】

【識別番号】 000000217

【氏名又は名称】 エーザイ株式会社

【代理人】

【識別番号】 100085545

【弁理士】

【氏名又は名称】 松井 光夫

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 平成10年特許願第301745号

【出願日】 平成10年10月 9日

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 014616

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤および成長促進剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 甘蔗由来のエキスを有効成分とする感染予防治療剤。

【請求項 2】 甘蔗由来のエキスが、甘蔗抽出物および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項 1 記載の感染予防治療剤。

【請求項 3】 甘蔗由来のエキスが、甘蔗抽出物および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項 1 記載の感染予防治療剤。

【請求項 4】 甘蔗由来のエキスが、バガスを手、親水性溶媒、またはこれらの混合物で抽出して得られるエキスである請求項 1 記載の感染予防治療剤。

【請求項 5】 親水性溶媒がエタノールである請求項 4 記載の感染予防治療剤。

【請求項 6】 抽出のための溶媒が、60/40 体積比以下の比でエタノールを含むエタノール-水混合溶媒である請求項 4 記載の感染予防治療剤。

【請求項 7】 請求項 1～6 のいずれか一項記載の感染予防治療剤を含む食品。

【請求項 8】 請求項 1～6 のいずれか一項記載の感染予防治療剤を含む飼料。

【請求項 9】 甘蔗由来のエキスを有効成分とする抗エンドトキシン剤。

【請求項 10】 甘蔗由来のエキスが、甘蔗抽出物および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項 9 記載の抗エンドトキシン剤。

【請求項 11】 甘蔗由来のエキスが、甘蔗抽出物および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合

物から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項 9 記載の抗エンドトキシン剤。

【請求項 12】 甘蔗由来のエキスが、バガスを水、親水性溶媒、またはこれらの混合物で抽出して得られるエキスである請求項 9 記載の抗エンドトキシン剤。

【請求項 13】 親水性溶媒がエタノールである請求項 12 記載の抗エンドトキシン剤。

【請求項 14】 抽出のための溶媒が、60/40 体積比以下の比でエタノールを含むエタノール-水混合溶媒である請求項 12 記載の抗エンドトキシン剤。

【請求項 15】 請求項 9～14 のいずれか一項記載の抗エンドトキシン剤を含む食品。

【請求項 16】 請求項 9～14 のいずれか一項記載の抗エンドトキシン剤を含む飼料。

【請求項 17】 甘蔗由来のエキスを有効成分とする成長促進剤。

【請求項 18】 甘蔗由来のエキスが、甘蔗抽出物および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項 17 記載の成長促進剤。

【請求項 19】 甘蔗由来のエキスが、甘蔗抽出物および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項 17 記載の成長促進剤。

【請求項 20】 甘蔗由来のエキスが、バガスを水、親水性溶媒、またはこれらの混合物で抽出して得られるエキスである請求項 17 記載の成長促進剤。

【請求項 21】 親水性溶媒がエタノールである請求項 20 記載の成長促進剤。

【請求項 22】 抽出のための溶媒が、60/40 体積比以下の比でエタノールを含むエタノール-水混合溶媒である請求項 20 記載の成長促進剤。

【請求項 2 3】 請求項 1 7 ~ 2 2 のいずれか一項記載の成長促進剤を含む食品。

【請求項 2 4】 請求項 1 7 ~ 2 2 のいずれか一項記載の成長促進剤を含む飼料。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ヒト又は動物のための感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤及び成長促進剤に関する。

本発明はまた、ヒト又は動物の感染を予防治療する食品又は飼料に関する。

本発明はまた、ヒト又は動物のエンドトキシンによる疾患を予防治療する食品又は飼料に関する。

本発明はまた、ヒト又は動物の成長を促進する食品又は飼料に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

近年、免疫学の進歩により、ヒト及び動物の種々の疾患あるいは感染症の多くは、免疫機能の低下乃至は免疫機能の不全が原因と考えられるようになっている。

【0 0 0 3】

例えばヒトの場合、気管支喘息、アレルギー疾患、関節リウマチ、自己免疫疾患、栄養障害、外科手術、高齢化、癌、臓器移植、妊娠等により多くの場合免疫機能が低下乃至は不全になり、呼吸器感染症、敗血症、尿路感染症等の感染症を併発する。従来、このような疾患や感染症に関しては各種抗生物質が投与されている。しかしながら、抗生物質は継続的に投与すると、耐性菌の発生により特定の抗生物質の効力が減弱して、最近クローズアップされている院内感染の問題も起きている。このようなことから抗生物質のみに依存するのではなく、その使用量を減らし、免疫機能そのものを高めることにより感染の予防治療を行う薬品もしくは食品の開発が望まれている。

【0 0 0 4】

一方、畜水産業界においては、家畜、家禽又は養殖魚を効率よく飼育するために、大規模飼育、過密飼育が行われているが、このような飼育形態が原因となるストレスや、幼若期における免疫不全により各種感染症が多発するという問題がある。その対策として病気の治療、予防のための抗生物質の大量投与が採用されている。しかし、抗生物質の大量投与を行うと、今度は抗生物質の残留や耐性菌の増加、耐性菌による病気の発生により、より多くのまたは別の種類の抗生物質を投与する必要が出てきている。

【0005】

従来、免疫賦活作用を有し、感染を防御する物質がいくつか探索されている。納豆菌、ビフィズス菌、クロストリジウムの一部の細菌についても免疫賦活作用があることが知られている。また、卵白（特開平3-251573号公報）、卵白、菌及びニンニクの2種以上の組み合わせ（特表平8-509211号公報）、刺梨、ヨモギ及びキャベツより選ばれる1種又は2種以上の組み合わせ（特開平6-116158号公報）、甘草成分（特開平9-143085号公報）の免疫賦活作用または感染防御作用が報告されている。

【0006】

また、上記の通り感染症、特に細菌による感染症が発生すると、一般的に抗生物質が投与される。このような場合、特に感染した細菌数が一定数以上に増加した段階で抗生物質を投与すると、細菌が一気に死滅することにより、細菌の内部に存在するエンドトキシンが宿主内に移動し、ショック症状（エンドトキシンショック）を起こす場合がある。また、抗生物質によるエンドトキシンの急激な血中への移行以外の場合でも、細菌又はそのエンドトキシンが血中を循環し敗血症や敗血症性ショックを引き起こす場合がある。このようなエンドトキシンによる疾患を予防又は治療するために、これまでいくつかの抗エンドトキシン剤が報告されている。

【0007】

抗エンドトキシン剤又はエンドトキシンによる疾患の治療法として、抗体を使用する方法（特表昭61-500355号公報、特表平4-506447号公報、特開平2-104534号公報、特開平2-134329号公報、特開平6-

62844号公報、特表平6-501931号公報など）があり、またトロンピン阻害剤であるヒルジンを利用する方法（特開平6-165691号公報）、変性C反応性蛋白を利用する方法（特表平7-501545号公報）、1,4-チアジン誘導体を使用する方法（特開昭63-301876号公報）、ヘテロ環状誘導体を使用する方法（特開平3-240779号公報）、タウリンを有効成分とする抗内毒素剤（特開平10-158158号公報）、新規化合物を使用する方法（特開平5-194470号公報）などが報告されている。

【0008】

また、畜水産業においては、家畜、魚介類およびエビを短期間に成長させ出荷できるようにすること、及び通常は体が小さく虚弱なため出荷できる状態まで成長しないと考えられる虚弱な家畜及び魚介類を成長させ、生産効率を上げることが望まれている。このような生産効率の改善を目的として、飼料効率を上げて成長させること、飼料の嗜好性を向上させ本来家畜・魚介類等があまり好まないが安価である飼料を有効な飼料として用いるようにすること、及び通常は育たないであろうと考えられる体が小さいことから虚弱である家畜・魚介類等を出荷できるまで成長させること等を目的とした研究が多数なされている。

【0009】

従来、家畜の体重を増加させる方法として、大豆、トチュウ、ウコギ、動物胆を含有する動物飼料添加剤（特開平7-313070号公報）、ビール酵母とエタノールの混合物を用いる方法（特開昭48-61266号公報）、抗生物質のマルチオマイシンを用いる方法（特開昭52-54013号公報）、チタン錯体を用いる方法（特開昭58-76050号公報）、グロブリン含有物を使用する方法（特開昭61-132143号公報）、カルバゼートを用いる方法（特開昭61-145156号公報）が報告されている。家畜の成長を促進させる方法として、 β -フェネタノールアミン類を用いる方法（特開昭59-155343号公報）、上皮細胞成長因子を用いる方法（特開昭62-240625号公報）、モルホリン誘導体を用いる方法（特開平1-6262号公報）、ホルスコリンを用いる方法（特開平1-320956号公報）が報告されている。飼料要求率を減少させることにより家畜の体重増加効率を向上させる方法として、果実酢を用

いる方法（特開昭48-103364号公報）、ブタプロラクチンを用いる方法（特開平1-230531号公報）、溶菌酵素生成物とプロテアーゼを用いる方法（特開平2-207756号公報）が報告されている。家畜飼料の嗜好性を向上させることにより体重を増加させる方法として、ヘキサノール又はヘキサナールを用いる方法（特開平7-313067号公報）が報告されている。また、下痢などの疾病を減少させることにより成長及び体重増加を効率化する方法として、フラクトオリゴ糖を用いる方法（特開昭60-34134号公報）、イヌロオリゴ糖を用いる方法（特開昭61-40754号公報）、ガラクトシル二糖を使用する方法（特開平4-360652号公報）、特定の β -1,3-グルカンの主鎖とする多糖を使用する方法（特開平7-50999号公報）、また夾膜を除去した菌体を有効成分とする体重増加及び免疫増強剤（特開平2-11519号公報）、スベリヒユを含有する飼料により免疫を増強させかつ体重を増加させる方法（特開平6-141784号公報）が報告されている。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】

従来報告されてきた天然の感染予防治療剤および抗エンドトキシン剤は、効力を示すには高濃度の経口投与が必要であったり、効力を発揮する添加量を食品や飼料に加えるとそれ自体の味、におい、風味が強く、食品や飼料の味やにおいに影響を与えたり、価格が上がるなどの理由で使用範囲が限られていた。従って、広範囲の食品や飼料に添加可能な味やにおいを有し、わずかな投与量で感染症の予防治療効果を示す、安価な天然素材が望まれている。

【0011】

また、従来報告されてきた成長促進剤には化学物質を用いたもの、植物体又はその抽出物を用いたもの、酵母などの微生物を用いたもの、植物脱脂大豆などの廃棄物を用いたもの、酵素その他のタンパク質や細胞中に含まれる生理活性を持つ物質など様々なものがあつたが、安価で簡便に得られる天然素材の成長促進剤はほとんど存在しなかつた。

【0012】

本発明は、ヒト又は動物において安全かつ有効な、感染予防治療剤、エンドト

キシنشョックに対する予防治療剤（抗エンドトキシン剤）および成長促進剤を提供することを目的とする。

【0013】

本発明はまた、このような感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、および成長促進剤を含む食品または飼料を提供することを目的とする。

【0014】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記の問題点に鑑み、ヒトあるいは動物に安全な、また低コストで製造できる感染予防治療効果、抗エンドトキシン効果、成長促進効果を有する食品について鋭意検討を重ねてきたが、古来食品として使用されている甘蔗を処理して得られるエキ스가、細菌あるいはウィルス等に対する感染予防治療効果、抗エンドトキシン効果、及び成長促進効果を発揮することを見出し、本発明を完成した。

【0015】

すなわち本発明は、甘蔗由来のエキスを有効成分とする感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、及び成長促進剤である。

【0016】

本発明は特に、甘蔗抽出物及び甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分を有効成分とする感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、及び成長促進剤である。

【0017】

あるいは、本発明は、甘蔗由来のバガスを原料とし、水、親水性溶媒、またはこれらの混合液を用いて抽出して得られるエキスを有効成分とする感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、成長促進剤である。

【0018】

本明細書において、「感染予防治療剤」とは、細菌あるいはウィルスなどに対する感染を予防あるいは治療する効果を有するものである。そのような効果とは、具体的には、免疫賦活効果による感染予防効果、その他の機構による感染を予防又は治療する効果を包含する。

【0019】

また本明細書において、「抗エンドトキシン効果」とは、エンドトキシンによる疾患を予防治療する効果を包含し、エンドトキシンショックや敗血症による死亡を減少させる効果、及び歯周病細菌のエンドトキシンによる口腔疾患をも包含する。

【0020】

また本明細書において、「成長促進効果」とは、幼齢期のヒト又は動物の成長を促進する効果、及びやせたヒト又は動物の体重を増加させる効果を包含する。なお、本明細書においては、成長促進効果と体重増加促進効果とは特に区別せず、同義としている。

【0021】

本発明において、動物とはヒト以外の脊椎動物を意味し、哺乳類、鳥類および魚類を含む。例えばウシ、ブタ、ウマ等の家畜、ニワトリ、ウズラ等の家禽、ハマチ、タイ、ウナギ、マス、コイ、金魚等の魚類、イヌ、ネコ等のコンパニオン・アニマルが挙げられる。

【0022】

本発明において、甘蔗由来のエキスとは、甘蔗を原料として得られたエキスである。

【0023】

1の実施態様においては、甘蔗由来のエキスは、甘蔗抽出物および甘蔗由来の糖蜜より選ばれた原料を固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理して得られる画分であり、さらに好ましくは、甘蔗抽出物および甘蔗由来の糖蜜より選ばれた原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填されたカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することによって得られる画分である。

【0024】

あるいは、別の実施態様においては、甘蔗由来のエキスは、甘蔗由来のバガスを水、親水性溶媒、およびこれらの混合液より選ばれた溶液で抽出することにより得られるエキスであり、更に好ましくは、甘蔗から糖汁を圧搾した残渣である

バガスを、水、親水性溶媒、及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で抽出することにより得られるエキスである。

【0025】

ここで、甘蔗抽出物とは、甘蔗（サトウキビ）を圧搾して得られる圧搾汁、甘蔗を水で浸出して得られる浸出汁、又は原糖製造工場における石灰処理した清浄汁、濃縮汁、精製糖製造工場における樹脂塔再生液、あるいは甘蔗の植物体全体又は一部を、植物由来の成分抽出法において水又は汎用の有機溶媒で抽出した抽出液を意味する。直上での有機溶媒としては、例えばメタノールやエタノール等のアルコール類、アセトン等のケトン類、酢酸メチルや酢酸エチル等の酢酸エステル類が挙げられ、これらを単独でも組み合わせて使用しても良い。さらに、これらの溶媒を水と組み合わせて使用しても良い。

【0026】

また甘蔗由来の糖蜜とは、例えば、原糖製造工場における製糖廃蜜、精製糖製造工場における洗糖蜜、ブラウンリカー、精糖廃蜜等が挙げられる。

【0027】

また本発明において、バガスとは典型的には原糖工場における製糖過程で排出されるバガスをいう。なおここでいう原糖工場における製糖過程で排出されるバガスには、最終圧搾機を出た最終バガスだけではなく、第1圧搾機を含む以降の圧搾機に食い込まれた細裂甘蔗をも含む。好ましくは、原糖工場において圧搾工程により糖汁を圧搾した後に排出されるバガスを用いる。圧搾工程より排出されるバガスは、甘蔗の種類、収穫時期等により、その含まれる水分、糖分、及びその組成比が異なるが、本発明においては、これらのバガスを任意に用いる。また、原糖工場と同様に、例えば、黒糖工場において排出される甘蔗圧搾後に残るバガスを使用しても良い。あるいは、実験室レベルの小規模な実施では、甘蔗から糖液を圧搾した後のバガスを用いてもよい。

【0028】

このような甘蔗由来のエキスは、具体的にはたとえば次のようにして得ることができる。

【0029】

まず、カラムクロマトグラフィー処理により得る方法について述べる。

【0030】

甘蔗抽出物又は糖蜜を、固定担体を用いたカラムに通液する。上記甘蔗抽出物又は糖蜜は、そのまま、又は水で任意の濃度の調整して、固定担体を充填したカラムに通液することができる。なお異物除去のために、カラムで処理する前に、甘蔗抽出物又は糖蜜をろ過することが望ましい。ろ過の手法は特に限定されず、食品工業で広く使用されているスクリーンろ過、ケイソウ土ろ過、精密ろ過、限外ろ過等の手段を好ましく使用できる。

【0031】

固定担体としては、合成吸着剤が好ましい。合成吸着剤としては、好ましくは有機系樹脂を用いることができ、例えば、芳香族系樹脂、アクリル酸系メタクリル樹脂、アクリロニトリル脂肪族系樹脂等が使用できる。さらに好ましくは芳香族系樹脂であり、特に無置換基型の芳香族系樹脂が使用できる。合成吸着剤として、例えばスチレンージビニルベンゼン系樹脂の芳香族系樹脂などが使用でき、芳香族系樹脂としては、例えば疎水性置換基を有する芳香族系樹脂、無置換基型の芳香族系樹脂、無置換基型に特殊処理を施した芳香族系樹脂等の多孔性樹脂が使用できる。より好ましくは無置換基型に特殊処理を施した芳香族系樹脂が使用できる。そのような合成吸着剤は市販されており、例えばダイアイオン（商標）系としてHP-10、HP-20、HP-21、HP-30、HP-40、HP-50（以上、無置換基型の芳香族系樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製）；SP-825、SP-800、SP-850、SP-875、SP-70、SP-700（以上、無置換基型に特殊処理を施した芳香族系樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製）；SP-900（芳香族系樹脂、商品名、三菱化学株式会社製）；アンバーライト（商標）として、XAD-2、XAD-4、XAD-16、XAD-2000（以上、芳香族系樹脂、いずれも商品名、株式会社オルガノ製）；ダイアイオン（商標）系として、SP-205、SP-206、SP-207（以上、疎水性置換基を有する芳香族系樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製）；HP-2MG、EX-0021（以上、疎水性置換基を有する芳香族系樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製）；アンバーライト

(商標)系として、XAD-7、XAD-8(以上、アクリル酸系エステル樹脂、いずれも商品名、株式会社オルガノ製)；ダイアイオン(商標)系として、HP1MG、HP2MG(以上、アクリル酸系メタクリル樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製)；セファデックス(商標)系としてLH20、LH60(以上、架橋デキストランの誘導体、いずれも商品名、ファルマシア バイオテック株式会社製)などが挙げられる。中でも、SP-85.0が特に好ましい。

【0032】

固定担体の量は、カラムの大きさ、溶媒の種類、固定担体の種類などによって変化する。原料(甘蔗抽出物及び糖蜜から選ばれる)の固形分に対して、0.01～5倍湿潤体積量が好ましい。

【0033】

原料(甘蔗抽出物及び糖蜜から選ばれる)を上記カラムに通すことにより、原料中の本発明の効果を有する成分は固定担体に吸着され、蔗糖、グルコース、フラクトースおよび無機塩類の大部分がそのまま流出する。

【0034】

固定担体に吸着された成分は、溶媒により溶出する。ここで、本発明の効果を有する成分を効率よく溶出するには、その前に残留する蔗糖、グルコース、フラクトースおよび無機塩類を水洗により十分に洗い流すことが好ましい。これにより、吸着されている目的の効果を有する成分をより効率よく回収することができる。溶出溶媒は、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる。溶出溶媒は水とアルコールの混合溶媒、特にエタノール-水混合溶媒が好ましく、更に、室温において効率よく目的の効果を有する成分を溶出できるので、50/50～60/40(体積/体積)エタノール-水混合溶媒が好ましい。更に、カラム温度を上げることにより、エタノール-水混合溶媒のエタノール混合比を減らすことができ、目的とする本発明の効果を有する成分を溶出することができる。この場合、カラム内は常圧もしくは加圧された状態である。このように、

本発明の効果を有する成分は、前記溶媒で溶出される画分に存在する。溶出速度はカラムの大きさ、溶媒の種類、固定担体の種類等によって変化するので特に限定されないが、 $SV = 0.1 \sim 10$ が好ましい。なお、SV(Space Velocity、

空間速度)は、1時間あたり樹脂容積の何倍量の液体を通液するかという単位である。

【0035】

前記本発明の効果を有する成分は、下記に限定されるものではないが、好ましくは次のようにして得ることができる。すなわち、原料の固形分に対して0.01~5倍湿潤体積量の無置換基型の芳香族系樹脂を充填したカラムに、カラム温度60~97℃にて原料を通液した後、カラム内を水洗し、次いでカラムに吸着されている成分を、カラム温度20~40℃にて50/50~60/40(体積/体積)エタノール-水混合溶媒で溶出させ、エタノール-水混合溶媒での溶出開始時点から集めた溶出液の量が前記樹脂の4倍湿潤体積量以内に溶出する画分を回収する。

【0036】

次に、バガスを抽出することにより甘蔗由来のエキスを得る方法について述べる。

【0037】

バガスを、水、親水性溶媒、これらの混合物からなる群より選択される溶媒で抽出することによって、バガス抽出物が得られる。親水性溶媒としては、例えばメタノール、エタノール等の低級アルコール類、アセトンなどのケトン類、酢酸メチルや酢酸エチル等の酢酸エステル類等を用いることができる。親水性溶媒としてはエタノールが好ましい。抽出のための好ましい溶媒は、60/40体積比以下の比で、より好ましくは50/50体積比以下の比エタノールを含むエタノール-水混合溶媒である。抽出温度は、効率よく抽出するためには、50~100℃が好ましい。また、抽出時間は、バガスの原料、種類、状態などによっても異なってくるが、通常1~3時間である。また抽出方法は、一般的な汎用性のある方法が使用でき、例えばバガスと抽出溶媒を共に容器に入れて抽出する方法、抽出溶媒を循環させて抽出する方法、連続的に抽出する方法、例えば、デスメット式抽出機、ルルギ式抽出機等を任意に使用することができる。バガスから抽出したエキスは糖含量が多いので、バガスエキスを上記と同様のカラムクロマトグラフィー処理に付すことにより糖を除去してもよい。

【0038】

上記のカラムクロマトグラフィー処理により得られた画分、または上記の様に得られたバガスの抽出液を集め、慣用の手段（減圧下での溶媒除去、凍結乾燥など）により濃縮して、本発明の効果を有する成分を得ることができる。このようにして得られた本発明の効果を有する成分は、固形分20%以上に濃縮した液状又は粉末状で保存することができる。保存は、特に液状の場合、冷蔵保存が好ましい。

【0039】

本発明の甘蔗由来のエキスは、マウスを用いた甘蔗由来のエキスの経口投与による動物実験の結果、低い投与量（体重当たりの濃度）で細菌、ウイルスに対する感染予防治療効果を示した（後述の実施例1および2）。よって本発明における甘蔗由来のエキスは細胞性免疫の機能を高めることにより感染防御作用を示すと考えられる。

【0040】

従って本発明は、ヒトあるいは動物などの免疫機能を高めることにより、各種の免疫機能低下乃至は不全による疾患の予防、治療のために使用できる。または、各種感染症に対する予防、治療のために使用できる。

【0041】

このような疾患は特に特定されるものではないが、例えばヒトの場合、関節リウマチ、糸球体腎炎、溶血性貧血、気管支喘息、パーチェット病、橋本病、多発性筋炎、全身性エリテマトーデス、全身性進行性硬化症、または一部の腫瘍等の自己免疫疾患、全身、呼吸器、尿路、腸管、腹腔内、粘膜、皮膚、髄腔または循環器における感染症、栄養障害児、加齢または外科的侵襲時の各種感染症をあげることができる。動物の場合、例えば、ブタの下痢、流行性肺炎、伝染性胃腸炎等、ニワトリの肺炎、マレック病、ウシの下痢、肺炎、乳房炎、ネコ免疫不全症候群及び白血病などを挙げることができる。さらに、本発明の適用される養殖魚の感染症も特定されないが、例えば、連鎖球菌、類結節症等の細菌感染症、ウイルス感染症等広範である。

【0042】

感染症の例として、細菌性疾患としては、ヒトのサルモネラ症(*Salmonella enteritidis*, *S. dublin*等)、腸炎ビブリオ(*Vibrio parahaemolyticus*)、腸チフス(*Salmonella typhi*)、病原性大腸菌感染症(*Escherichia coli*)、結核(*Mycobacterium tuberculosis*)、細菌性赤痢(*Shigella dysenteriae*, *S. flexneri*等)、百日咳(*Bordetella pertussis*)、ジフテリア(*Corynebacterium diphtheriae*)、ハンセン氏病(*Mycobacterium leprae*)、ペスト(*Yersinia pestis*)等が、ウシの乳房炎(*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Actinomyces pyogenes*等)、ブルセラ病(*Brucella abortus*)、カンピロバクター症(*Campylobacter fetus*)、炭疽(*Bacillus anthracis*)、ヨーネ病(*Mycobacterium avium*)、ウシ伝染性角結膜炎(*Moraxella bovis*)、輸送熱(*Pasteurella multocida*)、趾間腐爛(*Fusobacterium necrophorum*)等が、ウマの鼻疽(*Bordetella mallei*)、ウマ伝染性子宮炎(*Taylorella equigenitalis*)、回帰熱(*Borrelia theileri*)等が、ブタの萎縮性鼻炎(*Bordetella bronchiseptica*)、豚丹毒(*Erysipelothrix rhusiopathiae*)、グレーサー病(*Haemophilus parasuis*)等が、ニワトリのひな白痢(*Salmonella pullorum*)、家禽コレラ(*Pasteurella multocida*)、伝染性コリザ(*Haemophilus paragallinarum*)、非定型抗酸菌症(*Mycobacterium mageritense*)等が、イヌのレプトスピラ病(*Leptospira canicola*)、破傷風(*Clostridium tetani*)等が、魚類の連鎖球菌症(*Enterococcus seriolicida*)、類結節症(*Pasteurella piscicida*)、ビブリオ病(*Vibrio anguillarum*)、パラコロ病(*Edwardsiella ictaluri*)、冷水病(*Flavobacterium psychrophilum*)、レッドマウス病(*Yersinia ruckeri*)、尾ぐされ病(*Aeromonas hydrophila*)、ノカルジア症(*Nocardia asteroides*)等があげられる。ウイルス性疾患としては、ヒトのインフルエンザ(*Human influenza virus*)、帯状疱疹(*Human herpesvirus 3*)、免疫不全症候群(*Human immunodeficiency syndrome virus*)、灰白性随炎(*Poliovirus*)、風疹(*Rubellavirus*)、麻疹(*Measles virus*)、痘瘡(*Variola virus*)、日本脳炎(*Japanese encephalitis virus*)、流行性耳下腺炎(*Mumps virus*)、エボラ出血熱(*Ebola virus*)、デング熱(*Dengue virus*)、マールブルグ病(*Marburg virus*)、リンパ球性脈絡髄膜炎(*Lymphocytic choriomeningitis virus*)、成人T細胞白血病(*Human T-lymphotrophic virus*)、黄熱(*Yellow fever virus*)等が、ウシのウシ伝染性鼻気管炎(*Bovine herpesvirus 1*)等があげられる。

pesvirus 1)、ウシ口蹄疫(Foot-and-mouth disease virus)、ウシ流行熱(Bovine ephemeral fever virus)、牛痘(Cowpox virus)、アカバネ病(Akabane virus)、イバラキ病(Ibaraki virus)、ブルータング(Bluetongue virus)、輸送熱(Bovine parainfluenza virus)、リフトバレー熱(Rift Valley fever virus)等が、ウマのウマ伝染性貧血(Equine infectious anemia virus)、ウマ動脈炎(Equine arteritis virus)、ボルナ病(Bornavirus)、ウマ鼻肺炎(Equid herpesvirus 4)、東部ウマ脳炎(Eastern equine encephalitis virus)等が、ブタのブタ伝染性胃腸炎(Porcine transmissible gastroenteritis virus)、生殖器呼吸器症候群(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus)、オーエスキー病(Pseudorabies virus)、豚コレラ(Hog cholera virus)、ブタ水胞病(Swine vesicular disease virus)、ブタ封入体鼻炎(Suid herpesvirus 2)等が、ニワトリの伝染性ファブリキウス嚢病(Infectious bursal disease virus)、ニューカッスル病(Newcastle disease virus)、鶏痘(Fowlpox virus)、マレック病(Marek's disease virus)、伝染性喉頭気管炎(Infectious laryngotracheitis virus)、ニワトリ伝染性気管支炎(Avian infectious bronchitis virus)等が、イヌの狂犬病(Rabies virus)、ジステンパー(Canine distemper virus)、伝染性肝炎(Canine adenovirus 1)、パルボウイルス感染症(Canine parvovirus)等が、ネコのネコ白血病(Feline leukemia virus)、ネコ免疫不全症候群(Feline immunodeficiency virus)、ネコ伝染性腹膜炎(Feline infectious peritonitis virus)、汎白血球減少症(Feline panleukopenia virus)等が、魚類のイリドウイルス感染症(Flounder virus)、伝染性造血器壊死症(Infectious haematopoietic necrosis virus)、伝染性膵臓壊死症(Infectious pancreatic necrosis virus)、フグ口白症(未同定)等が挙げられる。真菌性疾患としては、ヒトのコクシジオイデス症(Coccidioides immitis)、ヒストプラズマ症(Histoplasma capsulatum)等が、ウシの乳房炎(Candida tropicalis)、流産(Aspergillus fumigatus)、皮膚糸状菌症(Trichophyton verrucosum)、ムコール症(Mucor racemosus)等が、ウマの喉嚢真菌症(Aspergillus nidulans)、伝染性リンパ節炎(Histoplasma farciminosum)、ウマ白癬菌症(Trichophyton equinum)等が、ニワトリのそ嚢炎(Candida albicans)、アスペルギルス肺炎(Aspergillus fumigatus)等が、イヌのブラスト

セス症 (*Blastomyces dermatitidis*)、皮膚糸状菌症 (*Microsporum canis*)、リンパ節炎 (*Histoplasma capsulatum*)、マラセチア症 (*Malassezia pachydermatis*) 等が、魚類の水カビ病 (*Saprolegnia parasitica*)、内臓真菌症 (*Saprolegnia diclina*)、真菌性肉芽腫症 (*Aphanomyces piscicida*)、ピチュウム症 (*Pythium gracile*)、鼓脹症 (*Candida sake*) 等が挙げられる。また、マイコプラズマによる感染症として、ウシの牛肺疫 (*Mycoplasma mycoides*)、マイコプラズマ性乳房炎 (*Mycoplasma bovis*) 等が、羊の伝染性無乳症 (*Mycoplasma agalactiae*) 等が、ブタのブタ流行性肺炎 (*Mycoplasma hyopneumoniae*) 等が、ニワトリの慢性上部気道炎 (*Mycoplasma gallisepticum*) 等が挙げられる。リケッチアによる感染症として、ヒトの発疹チフス (*Rickettsia prowazekii*)、Q熱 (*Coxiella burnetii*)、ネコ引っ掻き病 (*Bartonella henselae*) 等が、ウシの出血熱 (*Ehrlichia ondiri*) 等が、ウマのポトマック熱 (*Ehrlichia risticii*) 等が、イヌのイヌエールリキア病 (*Ehrlichia canis*) 等が挙げられる。クラミジアによる感染症として、ヒトのオウム病 (*Chlamidia psittaci*) 等が、ウシの流行性ウシ流産 (*Chlamydia psittaci*)、散発性ウシ脳脊髄炎 (*Chlamydia pecorum*) 等が、羊の伝染性漿膜炎 (*Chlamydia pecorum*)、クラミジア多発性関節炎 (*Chlamydia pecorum*) 等が、ネコのクラミジア肺炎 (*Chlamydia psittaci*) 等が挙げられる。

【0043】

本発明の甘蔗由来のエキ스는、実験動物の静脈にエンドトキシンを直接投与し、その1日前及び6時間後の2回、甘蔗由来のエキスを経口投与するというエンドトキシンモデルで、有意な生存率の上昇が得られた。従って、甘蔗由来のエキスそのものまたはその代謝産物が、血中に存在するエンドトキシンに直接作用し分解、凝集、その他の状態の変化を起こさせ中和する、エンドトキシンによる補体の過剰な活性化を抑制する、またはその他の何らかの機構によってエンドトキシンの効力を低減させるなど、いずれかの方法で抗エンドトキシン効果を発現し、エンドトキシンが原因となる疾患の予防治療のために使用できる。このような疾患は特に特定されるものではないが、例えば、エンドトキシンが細菌からヒトの血中に放出され、発熱、悪寒、嘔吐、意識障害などの重篤な全身症状が見られる敗血症やエンドトキシンショック、歯周病細菌のエンドトキシンによる口腔疾

患等が挙げられる。また、このようなエンドトキシンを有する細菌として、大腸菌、肺炎桿菌、プロテウス、緑膿菌、エンテロバクターなどのグラム陰性細菌が挙げられる。

【0044】

また、本発明の甘蔗由来のエキスは、実施例で説明するように成長促進作用を有する。

【0045】

本発明の感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、および成長促進剤の投与量は、甘蔗由来のエキスの精製度、形態、対象とする動物の種類、健康状態、成長の度合い等によって異なるので特に限定されないが、例えば後述の製造例1乃至4で得た甘蔗由来のエキス粉末の場合には、体重1kg当たり1日に1~1000mg、好ましくは50~1000mgである。

【0046】

本発明に係る甘蔗由来のエキスの投与形態は特に限定されないが、例えば経口的、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腹腔内、直腸内、舌下、経皮、点眼などの方法で投与することにより、感染予防治療効果、抗エンドトキシン効果、及び成長促進効果を発揮する。

【0047】

本発明に係る甘蔗由来のエキスを投与する際のエキスの形状は特に限定されず、液状または粉末形状のエキスをそのまま投与してもよく、また通常用いられる製剤用担体によって、公知の方法により固形剤とすることも液剤とすることもでき、また、製剤化の有無にかかわらず食品、飼料、飲水等に混合することもできる。

【0048】

経口用固形製剤を調製する場合には、エキスに賦形剤、結合剤、粘結剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤、抗酸化剤、溶解補助剤などを加えた後、常法により錠剤、被覆錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤などとする。

【0049】

上記賦形剤としては、例えばデンプン、コーンスターチ、デキストリン、小麦

粉、小麦ミドリング、ふすま、米ぬか、米ぬか油かす、大豆かす、大豆粉、大豆油かす、きな粉、ブドウ糖、乳糖、白糖、マルトース、植物油、動物油、硬化油、高級飽和脂肪酸、その他の脂肪酸、酵母、マンニトール、結晶セルロース、二酸化珪素、無水珪素、珪酸カルシウム、珪酸、リン酸一水素カルシウム、第二リン酸カルシウム、リン酸三カルシウム、リン酸カルシウム、リン酸第二水素カルシウムなどが用いられる。

【0050】

結合剤としては、例えばポリビニルピロリドン、エチルセルロース、メチルセルロース、アラビアゴム、トラガント、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、カゼインナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、プロピレングリコール、ポリアクリル酸ナトリウムなどが用いられる。

【0051】

滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、ステアリン酸などが用いられる。

【0052】

着色剤、着香料としては医薬品、食品、飼料に添加することが許可されているものであればよく、特に限定されない。

【0053】

抗酸化剤としては、例えばアスコルビン酸、 α -トコフェロール、エトキシキン、ジブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール等が挙げられ、医薬品や食品、飼料に添加することが許可されているものであればよい。また、錠剤、顆粒剤は必要に応じてコーティングすることは差し支えない。

【0054】

注射製剤を製造する場合には、必要に応じて主薬にpH調整剤、緩衝剤、懸濁化剤、溶解補助剤、安定化剤、等張化剤、抗酸化剤、保存剤などを添加し、常法により製造することができる。この際必要に応じ、凍結乾燥剤とすることも可能である。この注射剤は静脈内、皮下、筋肉内等に投与することができる。

【0055】

懸濁化剤としては例えば、メチルセルロース、ポリソルベート 80、ヒドロキシエチルセルロース、アラビアゴム、トラガント末、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートなどを挙げる事ができる。

【0056】

溶解補助剤としては、例えばポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリソルベート 80、ニコチン酸アミド、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートなどが用いられる。

【0057】

保存剤としては、例えばパラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、ソルビン酸などが用いられる。

【0058】

本発明はまた、前記した感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤及び成長促進剤を含む食品および飼料を提供する。食品および飼料は固体でも液体でもよい。食品としては、たとえば菓子類、清涼飲料、機能性調味料、健康食品等が挙げられる。飼料としては、たとえばドッグフード、キャットフードなどのペット用飼料、家畜用飼料、養殖魚介類用飼料等が挙げられる。

【0059】

【実施例】

以下、実施例を挙げて本発明をより具体的に解説する。実施例で使用する物質の投与量に関する記載、例えば「10mg/kg」または「10mg/kg体重」は、体重1kg当たり10mgを投与したという意味である。

【0060】

製造例 1

原糖製造工場の製造工程にて得られた甘蔗の圧搾汁（固形分 18.8%）650リットルを、ジュースヒーターで 80℃ に加温し、管型限外ろ過（MH-25 型、有効膜面積 $2\text{ m}^2 \times 3$ 本、分画分子量 10 万、ダイセル化学工業株式会社製）でろ過処理して、約 600リットルの処理液を得た。

【0061】

合成吸着剤 SP-850（商品名、三菱化学株式会社）15リットルを、ウォータージャケット付きのカラム（カラムサイズ：内径17.0cm、高さ100cm）に充填し、これに前記の圧搾汁ろ過処理液を、流速30リットル/時間（SV=2）の速度で通液した。なお、圧搾汁ろ過処理液通液中は、ウォータージャケットには、65℃の水を常に循環させた。次に、45リットルのイオン交換水を、流速30リットル/時間（SV=2）でカラムに通液して洗浄した。イオン交換水で洗浄後、カラムから溶出した画分について糖類の検出を行ったところ、ハンドレフブリックス（Bx）計（アタゴ（株）製、N-1E型）において、Bxが約0になっているのを確認した。その後、溶出溶媒として55%エタノール-水混合溶媒（エタノール/水=55/45（体積/体積））を流速30リットル/時間（SV=2）にてカラムに通液して、合成吸着剤に吸着した成分を溶出させた。なお、溶出溶媒通過中は、ウォータージャケットには、25℃の水を常に循環させた。カラム溶出液は5リットルずつ分取した。溶出パターンを図1に示す（①：圧搾汁ろ過処理液の通液開始時点、②：イオン交換水での洗浄開始時点、③：55%エタノール-水混合溶媒での溶出開始時点）。55%エタノール-水混合溶媒でカラムから溶出した画分（図1においてAの部分）を、濃縮機にて約20倍程度に減圧濃縮した後、1晩凍結乾燥して、茶色の粉末（甘蔗由来のエキス）460gを得た。

【0062】

製造例 2

原糖製造工場の製造工程にて得られた清浄汁（固形分11.7%）600リットルをそのまま限外ろ過処理せずに使用した以外は製造例1と同様にして、カラム処理を行った。このときの溶出パターンを図2に示す（①：圧搾汁ろ過処理液の通液開始時点、②：イオン交換水での洗浄開始時点、③：55%エタノール-水混合溶媒での溶出開始時点）。図2において、Bの画分を分取し、減圧濃縮した後、1晩凍結乾燥して、225gの茶褐色の粉末（甘蔗由来のエキス）を得た。

【0063】

製造例 3

原料糖製造工場で得られた乾燥バガス 1 kg をナイロンネット製の袋に入れ、袋ごとタンクに入れ、80℃の水を 25 リットル添加し、1 時間攪拌抽出した。得られた抽出液をコットンフィルターで濾過し、異物を除去した。濾液を遠心式薄膜濃縮機で減圧濃縮した後、1 晩凍結乾燥して、26.31 g の茶褐色の粉末（甘蔗由来のエキス）を得た。

【0064】

製造例 4

原料糖製造工場で得られた乾燥バガス 350 g をナイロンネット製の袋に入れ、50/50 体積比のエタノール/水の 5250 ml を添加し、室温で 2 時間攪拌抽出した。得られた抽出液をアドバンテック東洋（株）No. 2 濾紙で濾過し、異物を濾過した。濾液をエバポレーターで減圧濃縮した後、1 晩凍結乾燥して、6.72 g の茶褐色の粉末（甘蔗由来のエキス）を得た。

【0065】

試験例 1 甘蔗由来のエキスの急性毒性試験

製造例 1 で得られたエキス粉末を使用して、ラットを用いた単回経口投与毒性試験を行った。Sprague-Dawley 系 SPF ラット（Crj:CD(SD)）の雌雄各 16 匹を 5 週令で入手し、約 1 週間検疫・馴化飼育した後、健康な動物を選び、6 週令で試験に供した。投与時の体重範囲は雄で 157~171 g、雌で 123~133 g であった。

【0066】

飼育条件は、動物は温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $50 \pm 2\%$ 、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間の飼育室で固形飼料（CRF-1（商品名）、オリエンタル酵母株式会社）及び飲料水を自由に摂取させて飼育した。

【0067】

投与前一晩（約 16 時間）絶食させたラットに、一定の投与容量 10 ml/kg 体重にて、所定濃度の甘蔗由来のエキス粉末を 1 回強制経口投与した。対照群の動物には滅菌蒸留水のみを同様に投与した。なお、絶食後の再給餌は投与 6 時間後に実施した。

【0068】

投与量は、200 mg/kg 及び 1000 mg/kg の 2 用量とし、これに対照群を加えて計 3

群を使用した。1群の動物数は雌雄共に5匹とした。

結果を以下の表1に示す。

【0069】

【表1】

単回経口投与毒性試験						
投与量 (mg/kg)	濃度 (重量/体積%)	投与容量 (ml/kg体重)	性	個体数	死亡数	動物番号
0	0	10	雄	5	0/5	1001~1005
0	0	10	雌	5	0/5	1101~1105
200	2	10	雄	5	0/5	2001~2005
200	2	10	雌	5	0/5	2101~2105
1000	10	10	雄	5	0/5	3001~3005
1000	10	10	雌	5	0/5	3101~3105

【0070】

投与後14日間が経過した後、雌雄とも最大量の1000mg/kgでも、ラットの死亡は認められなかったもので、致死量は1000mg/kgを上回るものと推定される。

【0071】

飼育中いずれのラットにおいても異常は認められず、さらに各被検液投与群の雌

雄の体重は、対照群とほぼ同等の推移を示し、観察期間中の体重増加も対照群とほぼ同等であった。また、いずれのラットにおいても、解剖学的検査の結果、体外表、頭部、胸部及び腹部の器官・組織に異常は見られなかった。

【0072】

以上の結果から、製造例1で得られたエキス粉末をラットに単回経口投与毒性試験を行ったときの毒性は極めて弱いものと考えられる。

【0073】

試験例2 甘蔗由来のエキスの大腸菌に対する抗菌活性

製造例1～4で得られたエキス粉末をそれぞれ用いて、大腸菌 (*Escherichia coli*) 6種に対する最小発育阻止濃度 (MIC $\mu\text{g/ml}$) を、日本化学療法学会法に準拠して調べた。エキスを滅菌蒸留水で溶解・希釈し、100 $\mu\text{g/ml}$ 、300 $\mu\text{g/ml}$ 、1000 $\mu\text{g/ml}$ 、3000 $\mu\text{g/ml}$ 、10000 $\mu\text{g/ml}$ の5段階で測定した。その結果、大腸菌6種に対するMICはすべて10000 $\mu\text{g/ml}$ であり、強い抗菌活性は認められなかった。結果を以下の表2に示す。

【0074】

【表 2】

菌株名	各菌株に対する最小発育阻止濃度 ($\mu\text{g/ml}$)			
	製造例 1 のエキス	製造例 2 のエキス	製造例 3 のエキス	製造例 4 のエキス
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	10000	10000	10000	10000
<i>Escherichia coli</i> C-1	10000	10000	10000	10000
<i>Escherichia coli</i> C-2	10000	10000	10000	10000
<i>Escherichia coli</i> C-3	10000	10000	10000	10000
<i>Escherichia coli</i> TK-18A	10000	10000	10000	10000
<i>Escherichia coli</i> E01292	10000	10000	10000	10000

【0075】

また、他の数種の菌株（細菌、酵母、真菌）に関して同様の試験を行った結果、細菌（*Pseudomonas aureofaciens*）、酵母（*Saccharomyces cerevisiae*、*Hansenula anomala*等）、真菌（*Chaetomium globsum*）については、MICが $1000\mu\text{g/ml}$ であり、大腸菌に対するよりも高い抗菌作用が認められた。

【0076】

試験例 3 甘蔗由来のエキスのウイルス増殖抑制試験

製造例 1 および 2 で得られた甘蔗由来のエキスパウダーをそれぞれ用いて、コクサッキーウイルス (Coxsackie virus type B6 Schmitt株) 及びヘルペスウイルス (Herpes simplex virus type 1 HF株) の増殖抑制能を調べた。

【0077】

まずエキスのヒト胎児肺由来細胞 (HEL-R66細胞) に対する細胞毒性を調べた。甘蔗由来のエキスを滅菌蒸留水に溶解し、最終濃度が125~2000 $\mu\text{g/ml}$ になるように調製し、培養細胞にかけた。4日間培養し、細胞変性の有無を検鏡して判断した。その結果、表3に示すように、1000 $\mu\text{g/ml}$ までの濃度では、細胞に対する毒性は認められなかった。

【0078】

次に、細胞に100PFUのウイルスを接種し、ウイルスの吸着後これを除去した。細胞の維持培地に甘蔗由来のエキスを最終濃度125~1000 $\mu\text{g/ml}$ になるように添加し、ウイルスが吸着した細胞を4日間培養した。培養後、ウイルス増殖の有無を検鏡して判定した。その結果、表4及び表5に示すように、甘蔗由来のエキスを、コクサッキーウイルスに対する増殖抑制効果はもたないが、ヘルペスウイルスに対し、500~1000 $\mu\text{g/ml}$ の作用濃度で増殖抑制能をもつことが明らかになった。

【0079】

【表3】

	細胞毒性 甘蔗エキスの最終濃度 ($\mu\text{g/ml}$)				
	125	250	500	1000	2000
製造例1のエキスパウダー	—	—	—	—	+
製造例2のエキスパウダー	—	—	—	—	+
滅菌蒸留水 (対照)	—	—	—	—	—

【0080】

【表 4】

コクサッキーウイルスに対する増殖抑制

	甘蔗エキスの最終濃度 ($\mu\text{g/ml}$)		
	125	250	1000
製造例1のエキス	—	—	—
製造例2のエキス	—	—	—
滅菌蒸留水 (対照)	—	—	—

【0081】

【表 5】

ヘルペスウイルスに対する増殖抑制

	甘蔗エキスの最終濃度 ($\mu\text{g/ml}$)			
	125	250	500	1000
製造例1のエキス	—	—	±	+
製造例2のエキス	—	—	±	+
滅菌蒸留水 (対照)	—	—	—	—

【0082】

実施例 1

Slc: ICRマウス雄 5週令 (体重約30g) を一群10匹で供試し、菌攻撃 1 日前に、前記製造例 1～4 で調製したエキスをそれぞれ滅菌蒸留水で溶解または懸濁したものを、100mg/kg又は500mg/kgになるように強制経口投与した。一方、対照区にも、同容量の滅菌蒸留水を経口投与した。菌攻撃は、ヒト由来大腸菌 (E.coli) の希釈菌液の 1 MLDの菌量0.2ml (4.0×10^7 CFU/マウス) を、マウスの皮下に接種し、4 日後の生存率を求めた。判定は χ^2 検定により検定し、その結果を表 6 に示した。

【0083】

【表 6】

大腸菌感染防御試験

使用したエキス	エキス摂取量	生存率(%)	χ^2 検定
対照		0	
製造例1のエキス	100mg/kg	40	*
製造例1のエキス	200mg/kg	60	**
製造例1のエキス	500mg/kg	80	**
製造例2のエキス	100mg/kg	30	
製造例2のエキス	500mg/kg	50	*
製造例3のエキス	100mg/kg	30	
製造例3のエキス	200mg/kg	50	*
製造例3のエキス	500mg/kg	80	**
製造例4のエキス	100mg/kg	0	
製造例4のエキス	200mg/kg	10	
製造例4のエキス	500mg/kg	40	*

* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$

【0084】

甘蔗由来のエキスを投与後大腸菌を接種した群では、明らかに生存率が上昇しており、また投与量依存的に生存数が上昇した。大腸菌に対する抗菌活性は、経口投与という直接的に菌に与えるのではない方法で投与したにもかかわらず、感染防御効果が認められることから、甘蔗由来のエキスには強い免疫賦活効果があるものと考えられる。

【0085】

実施例 2

1) 供試したエキス

製造例 1～4 で調製した甘蔗由来のエキスの他に、以下の処理エキスを調製した。まず、製造例 2 で調製したエキスを滅菌水に懸濁し、分画分子量1000のセルロースエステル製の透析チューブ (Spectra/Por (商標) CE (Cellulose Ester) Membrum MWC0:1000、スペクトラム社製) に入れ、滅菌水に対して透析を行った。得られた透析膜の内液を分子量1000以上の画分、外液を分子量1000以下の画分

としてそれぞれ濃縮、乾固し試験に用いた。

2) 抗ウイルス試験

Slc:ICRマウス雄 5 週令（体重約 30 g）を一群 10 匹で供試し、ウイルス攻撃直後、1 日後、2 日後の計 3 回（又は 1 日 3 回×3 日間連続投与の計 9 回）のタイミングで、製造例 1～4 のエキスを、及び製造例 2 の処理エキス（分子量 1000 以下の画分及び分子量 1000 以上の画分）を、それぞれ滅菌蒸留水で溶解または懸濁したものを、表 7 に示す量で強制経口投与または筋肉内投与した。一方、対照区にも同容量の滅菌蒸留水を経口投与した。ウイルス攻撃は、ブタ由来オーエスキーウイルスの希釈ウイルス液の 1 MLD（133PFU/mouse）のウイルス量 0.2ml をマウスの皮下に接種し、7 日後の生存率を求めた。判定は χ^2 検定により検定し、その結果を表 7 に示した。

【0086】

【表 7】

ウイルス感染防御試験

使用したエキス	エキスの摂取量	投与方法	接種のタイ ミング	生存率 (%)	χ^2 検定
対照		経口投与		0	
製造例1のエキス	100mg/kg	経口投与	× 3	20	
製造例1のエキス	200mg/kg	経口投与	× 3	60	**
製造例1のエキス	500mg/kg	経口投与	× 3	80	**
製造例2のエキス	100mg/kg	経口投与	× 3	10	
製造例2のエキス	200mg/kg	経口投与	× 3	30	
製造例2のエキス	500mg/kg	経口投与	× 3	70	**
製造例3のエキス	100mg/kg	経口投与	× 3	20	
製造例3のエキス	200mg/kg	経口投与	× 3	40	*
製造例3のエキス	500mg/kg	経口投与	× 3	70	**
製造例4のエキス	100mg/kg	経口投与	× 3	10	
製造例4のエキス	200mg/kg	経口投与	× 3	30	
製造例4のエキス	500mg/kg	経口投与	× 3	60	**
製造例2のエキス	25mg/kg	経口投与	× 3 × 3	0	
製造例2のエキス	50mg/kg	経口投与	× 3 × 3	30	
製造例2のエキス	100mg/kg	経口投与	× 3 × 3	40	*
製造例2のエキス	200mg/kg	経口投与	× 3 × 3	70	**
製造例2のエキス	500mg/kg	経口投与	× 3 × 3	90	**
製造例2の処理エキス (分子量1000以下)	125mg/kg	経口投与	× 3	20	
製造例2の処理エキス (分子量1000以下)	250mg/kg	経口投与	× 3	40	*
製造例2の処理エキス (分子量1000以下)	500mg/kg	経口投与	× 3	80	**
製造例2の処理エキス (分子量1000以上)	500mg/kg	経口投与	× 3	20	
製造例2の処理エキス (分子量1000以下)	1.56mg/kg	筋肉内投与	× 3	20	
製造例2の処理エキス (分子量1000以下)	6.25mg/kg	筋肉内投与	× 3	30	
製造例2の処理エキス (分子量1000以下)	25.0mg/kg	筋肉内投与	× 3	60	**

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

× 3 は 1 日 1 回 3 日間連続投与を示し、× 3 × 3 は 1 日 3 回 3 日間連続投与を示す。

【0087】

甘蔗由来のエキスを投与した群では明らかに生存率が上昇しており、また投与量依存的に生存数が上昇した。すなわち、甘蔗由来のエキスにはウイルス感染防御効果が認められた。また、製造例2の処理エキスでは、分子量1000以下の画分の方が分子量1000以上の画分より効果が高い。また、同じく分子量1000以下の画分

の場合に、分画前の製造例2のエキスより高いウイルス感染防御効果が認められたことから、感染防御効果の有効成分は、製造例2の処理エキスの分子量1000以下の画分に多く含まれていると考えられる。また、筋肉内投与により有意な生存率が認められたことから、本発明の甘蔗由来のエキスは筋肉内投与によっても効果を示すことがわかる。

【0088】

実施例3

1) 供試したエキス

製造例1～4で調製した甘蔗由来のエキスの他に、実施例2と同様な方法で処理した製造例2の処理エキス（分子量1000以下の画分及び分子量1000以上の画分）を試験に用いた。

2) 抗エンドトキシン効果確認試験

Slc:ICRマウス雄5週令（体重約30g）を一群10匹で供試し、エンドトキシン（リポポリサッカライド、以下「LPS」とする）攻撃、1日前および6時間後の計2回のタイミングで、製造例1～4のエキス及び製造例2の処理エキス（分子量1000以下の画分及び分子量1000以上の画分）を滅菌蒸留水で溶解・懸濁後、100mg/kgの割合で、強制経口投与した。一方、対照区にも同容量の滅菌蒸留水を経口投与した。エンドトキシン攻撃は、大腸菌由来のLPSの最小致死量0.2mlを、マウスの尾静脈に接種し、4日後の生存率を求めた。判定は χ^2 検定により検定し、その結果を表8に示した。

【0089】

【表 8】

抗エンドトキシンショック評価試験

使用したエキス	生存率(%)	χ^2 検定
対照	0	
製造例 1 のエキス	50	*
製造例 2 のエキス	40	*
製造例 3 のエキス	40	*
製造例 2 の処理エキス (分子量1000以下の画分)	60	**
製造例 2 の処理エキス (分子量1000以上の画分)	20	

* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$

【0090】

甘蔗由来のエキスを投与した群では明らかに生存率が上昇していることから、本発明のエキスは抗エンドトキシン効果を示すことが考えられる。また、製造例 2 の処理エキスでは低分子量画分の方が高分子量画分より効果が高い。また、同じく低分子量画分の場合に、分画前の製造例 2 のエキスより高い抗エンドトキシンショック効果が認められたことから、抗エンドトキシン効果を示す有効成分は、製造例 2 の処理エキスの分子量1000以下の画分に多く含まれると考えられる。

【0091】

実施例 4

Slc:ICRマウス雄 3 週令（体重約12g）を一群 5 匹で供試した。一区はMF標準飼料対照区、2～5 区は製造例 1～4 で調製したエキス0.1%添加MF標準飼料区で、28日間飼育した。終了時に体重測定を行い、併せて採血・血漿の生化学的検査も実施した。体重増加の結果を表 9 に、血漿の生化学的検査の結果を表 10 に示す。

【0092】

【表 9】

エキスの成長促進効果

試験群	試験終了時体重(g)	増体率(倍)	増体率比(%)
対照区	27.6	2.29	100
製造例1のエキス	31.4	2.60	114
製造例2のエキス	30.9	2.55	111
製造例3のエキス	30.0	2.51	110
製造例4のエキス	29.9	2.48	108

【 0 0 9 3 】

【表 10】

表 10 エキス投与後の血漿生化学的検査結果

測定項目	GPT (IU/L)	GOT (IU/L)	ALP (IU/L)	GLU (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	T. CHO (mg/dl)	TG (mg/dl)	T. PRO (g/dl)	PL (mg/dl)	ALB-U (g/dl)	LDH (IU/L)
試験群											
対照区	35.4 ±49.8	50.8 ±42.1	205.8 ±23.3	156.0 ±13.2	0.162 ±0.028	114.6 ±13.8	91.6 ±46.1	4.22 ±0.34	225.2 ±27.3	2.44 ±0.20	962 ±993
製造例1のエキス	22.0 ±10.5	46.0 ±6.8	190.0 ±39.0	179.0 ±25.0	0.112 ±0.031	114.8 ±15.3	112.8 ±35.0	4.42 ±0.17	220.6 ±20.7	2.56 ±0.10	968 ±259
製造例2のエキス	31.0 ±21.8	48.0 ±9.7	186.6 ±28.8	181.2 ±21.9	0.134 ±0.029	115.4 ±13.4	90.4 ±25.4	4.40 ±0.27	218.2 ±17.9	2.54 ±0.22	1113 ±277
製造例3のエキス	16.4 ±4.4	37.0 ±8.8	172.2 ±20.8	170.8 ±10.0	0.116 ±0.010	103.8 ±15.8	88.8 ±19.4	4.04 ±0.08	202.2 ±15.9	2.40 ±0.00	767 ±204
製造例4のエキス	18.6 ±4.5	53.8 ±23.3	220.4 ±35.5	190.0 ±24.4	0.120 ±0.032	110.0 ±12.6	81.2 ±33.5	3.88 ±0.16	202.1 ±17.9	2.26 ±0.10	1420 ±747

【0094】

試験の結果、甘蔗由来のエキスをを使用した群では明らかに体重が増加しており、成長促進活性が認められた。また、生化学的検査の結果、異常は認められなかった。（なお、試験例 1 では体重増加に差がないが、そこでは単回投与である。）

【0095】

【発明の効果】

本発明によれば、甘蔗由来のエキスをヒト又は動物に例えば経口的に与えることにより、ヒト又は動物の免疫機能を賦活させ、あるいは細菌及びウイルス等による感染を予防治療することができ、またエンドトキシンによる疾患も予防することができる。また、甘蔗由来のエキスは、ヒト又は動物に例えば経口的に与えることにより、成長を促進することができる。しかも、甘蔗由来のエキスは植物由来であり、古来、ヒトが黒糖などの含蜜糖として食してきた天然物であるため、ヒト及び動物の健康を害することなく安全で、しかも低コストである。また、天然物であるにもかかわらずその感染予防治療効果、抗エンドトキシン効果、成長促進効果は高く、少量で作用するため、産業上非常に有用である。

【0096】

【図面の簡単な説明】

【図 1】

製造例 1 で行ったカラムクロマトグラフィーにおける溶出パターンを示す図である。

【図 2】

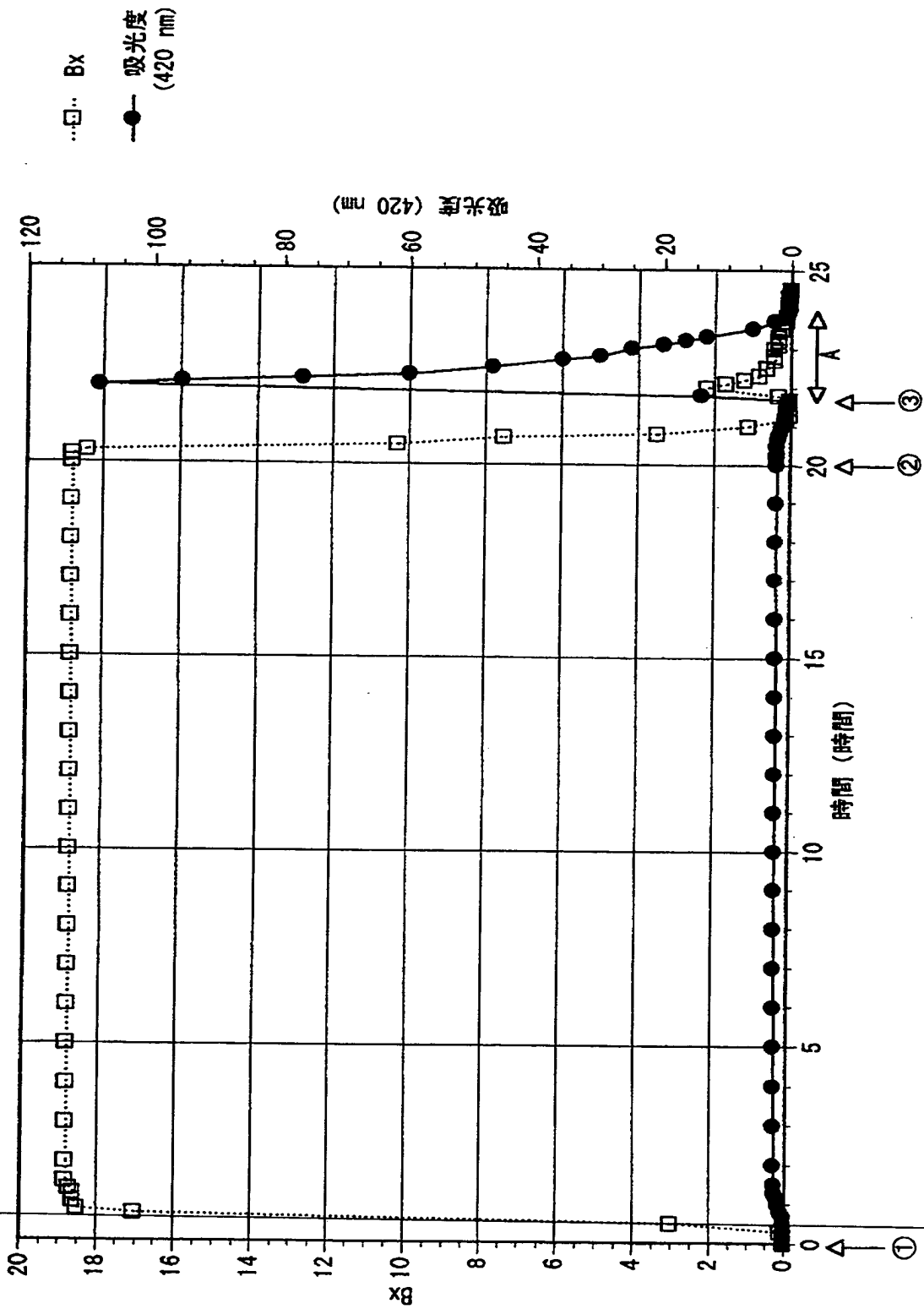
製造例 2 で行ったカラムクロマトグラフィーにおける溶出パターンを示す図である。

特平 1 1 - 0 3 5 0 4 7

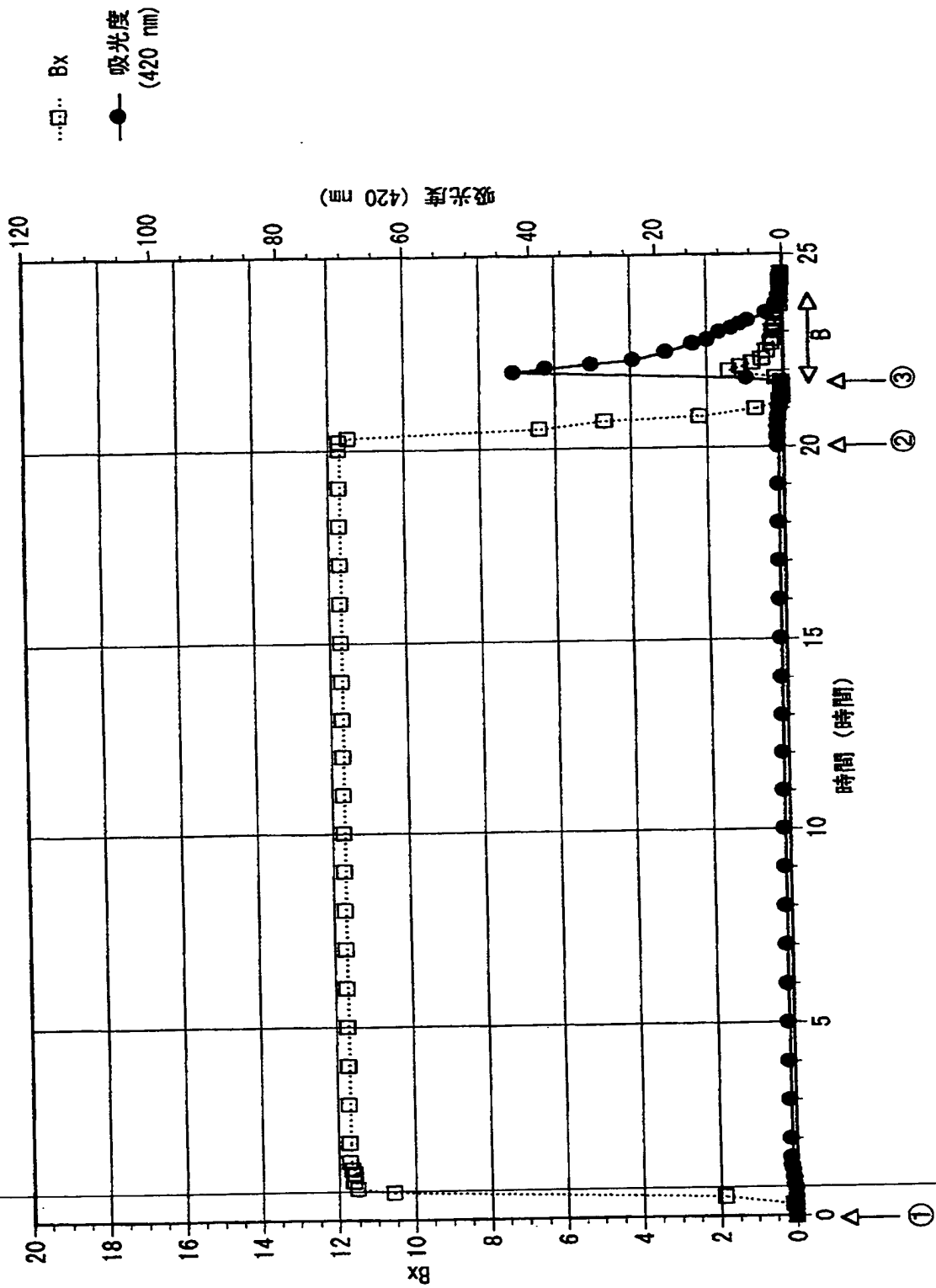
【書類名】

図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 ヒト又は動物において安全かつ有効である、感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤および成長促進剤を提供する。

【解決手段】 甘蔗由来のエキスを有効成分とする感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤及び成長促進剤ならびに、これらの剤を含む食品および飼料。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000174998]

1. 変更年月日	1994年 5月27日
[変更理由]	住所変更
住 所	東京都中央区日本橋本町二丁目8番2号
氏 名	三井製糖株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000000217]

1. 変更年月日

1990年 8月29日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都文京区小石川4丁目6番10号

氏 名

エーザイ株式会社

